The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Wistar－Furth系ラット自然発生大腸癌の免疫学的研究 ： 腫瘍抗原の解析と抗腫瘍抗体の検索
Author(s)	松尾, 敬志
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/33921
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【12】

氏名・（本籍）	松尾敬志（まつお たかし）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 6431 号
学位授与の日付	昭和59年3月24日
学位授与の要件	歯学研究科 歯学臨床系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**Wistar—Furth系ラット自然発生大腸癌の免疫学的研究：腫瘍抗原の解析と抗腫瘍抗体の検索**
論文審査委員	（主査） 教授 岡田 宏 （副査） 教授 作田 正義 講師 滝川 正春 講師 高田春比古

論文内容の要旨

ヒト腫瘍抗原に関する多くの研究が，大腸癌を用いて行われてきた。とりわけcarcinoembryonic antigen（CEA）は詳細に研究され，診断など臨床的にも応用されている。しかしヒト腫瘍抗原の解析に用いる抗血清は，従来は実験動物免疫血清が利用されたため，それは多様な抗体を含み，腫瘍抗原の特異性の解析が困難であった。CEAは，正常組織（肺・脾臓）に局在する抗原や糞便中の抗原と交差することが報告されており，CEAが腫瘍特異的抗原活性を有するかどうかは結論づけられていない。従って腫瘍抗原を解析するためには，ヒト癌に近い純系のモデル動物が得られることが望まれる。

宮本ら（阪大・医・病理）が継代飼育するWistar－Furth系ラットは大腸癌が自然発症し，それはヒト大腸癌に極めて近いモデルと考えられている。そこでこのラット系を用いて，大腸癌における腫瘍抗原の存在を検討し，腫瘍抗原の分離と精製を試みた。更に癌宿主ラットにおける腫瘍抗原に対する免疫応答についても検討を加えた。

まず同系非担癌ラットに，癌組織粗抽出物をFreundの不完全アジュバントと共に頻回免疫して得た免疫血清を用いて腫瘍抗原を解析した。すなわち癌組織切片上で間接蛍光抗体法を用いて腫瘍抗原の局在を検討し，管腔を形成する癌細胞の内腔側に正常大腸組織では認められない特異蛍光を認めた。

さらに癌組織を生食水にてホモジネートとし，その5000×gの遠心上清をSephacryl S－200でゲルろ過して得た画分の腫瘍抗原活性を，それぞれオクタロニー法で検討した。その結果，void volume画分（P°_{1-1}）は免疫血清と沈降線を形成し，P°_{1-1}に腫瘍抗原活性のあることが確認された。また腫瘍抗原の局在を示す特異蛍光が，免疫血清をP°_{1-1}で吸収した場合にのみ認められないことから，P°_{1-1}に腫瘍抗原が含まれていることが追認された。P°_{1-1}をSephacryl S－300ゲルろ過で更にFr.

A（分子量80万以上）とFr．B（分子量約45万）に分画し，免疫血清による受身赤血球凝集反応がFr．Aでは阻止されずFr．Bで阻止されたことから，Fr．Bに腫瘍抗原の存在することが示された。また癌細胞の内腔側に認められていた特異蛍光は，免疫血清をFr．Bで吸収した場合に認められないことから同部に局在した腫瘍抗原はFr．Bに含まれていることが明らかとなった。更に同系非担癌ラットにFr．Bを免疫して得た抗血清は，癌組織粗抽出物で免疫して得た抗血清と，オクタロニー法および免疫組織学的検討の結果，同様の反応特異性を示し，腫瘍抗原の活性がFr．Bにあることが確認された。Fr．Bを7.5％ポリアクリルアミドゲルを支持体として電気泳動して蛋白染色を施したところ3本のバンドが認められた。従ってFr．Bにはなお3種類の蛋白成分が含まれ，腫瘍抗原の精製が更に必要であることが判明した。

正常ラット糞便の生食抽出物で免疫血清を吸収しても，癌組織に特異蛍光が認められ，このことから腫瘍抗原が糞便中の抗原とは異なることが示された。また腫瘍抗原に対する免疫血清は，胎児大腸に局在する抗原も認識することが間接蛍光抗体法で示され，この腫瘍抗原がoncofetal 抗原であることが推定された。

担癌ラットより得た血清による間接蛍光抗体法により，正常大腸組織では認められない特異蛍光が，管腔を形成する癌組胞の内腔側に認められ，これは免疫血清の場合と一致した。従って担癌ラット血清中には抗腫瘍抗体が存在することが明らかである。担癌ラット血清からProtein A−Sepharose CL−4Bアフィニティクロマトグラフィーを用いて分離したIgG画分は，Fr．Bと特異的な沈降線を形成することがオクタロニー法で示された。これらの事実より，担癌宿主は，癌組織の腫瘍抗原を非自己と認織してIgG抗体を産生していることが判明した。また担癌ラットの腎糸球体には，正常ラットのそれに認められない強いIgGの沈着が蛍光抗体法で示され，担癌ラット血中において腫瘍抗原−抗腫瘍抗体による免疫複合体の形成が強く示唆された。

今回，Wistar−Furth系ラット大腸癌には，癌に特異的と考えられる腫瘍抗原が，管腔を形成する癌細胞の内腔側に局在し，宿主はそれを非自己と認識して免疫応答を行っていることを明らかにした。この腫瘍抗原は，癌組織抽出物をゲルろ過した場合，Fr．B（分子量約45万）の画分に含まれた。しかしこの画分は電気泳動的に単一ではなく，今後の分離・精製が望まれる。

論文の審査結果の要旨

本研究は，腫瘍抗原について，宮本ら（阪大，医，病理）がWistar −Furth系ラットを継代飼育して自然発症させた大腸癌を用いて，検討したものである。

この研究により，本腫瘍は同系非担癌ラットに非自己と認識される腫瘍特異抗原を有していることが明らかにされた。そしてこの抗原は，管腔を形成する本腫瘍細胞の内腔側に局在し，また胎児大腸組織と交差することからoncofetal 抗原であろうと推定している。さらに本腫瘍抗原の精製を試み，これが分子量450,000のタンパクあるいは糖タンパクである可能性を示唆した。一方，担癌ラット血中には，

本腫瘍抗原に対するIgGクラスの抗体が認められた。この抗体は腫瘍組織に局在しないが，腎系球体へのIgGの沈着所見から，免疫複合体を形成する可能性を示唆している。

以上のように松尾敬志君の論文は，ヒト大腸癌の実験モデルと期待されるラットの自然発生大腸癌における腫瘍抗原の解析ならびに，これに対する生体の体液性免疫応答の実態を明らかにし，本腫瘍の免疫監視機構解明への基礎資料を提供したものである。よって歯学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。